

## GRANULOMA FÚNGICO SUBCUTÂNEO EM *LEPTODACTYLUS VASTUS* DE RESERVA URBANA

*(Subcutaneous fungal granuloma in an *Leptodactylus vastus* an local urban natural reserve)*

Nicole Souza WILLERS\*<sup>1</sup>; Bruna Kassia Nunes ELEUTÉRIO<sup>2</sup>;  
Tatiana Feitosa QUIRINO<sup>2</sup>; Roberta da Rocha BRAGA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária. Universidade Estadual do Ceará (UECE), Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903; <sup>2</sup>Laboratório Acadêmico de Patologia Silvestre, Universidade Federal do Ceará (UFC). \*Email: [nicole.willers@aluno.uece.br](mailto:nicole.willers@aluno.uece.br)

### ABSTRACT

*A granulomatous reaction is a chronic inflammation that forms masses or nodules. The objective of this study was to report the occurrence of a focal subcutaneous fungal granuloma in a *L. vastus* from an urban reserve in Ceará, Brazil. During monitoring of AMP, one specimen of *L. vastus* presented a subcutaneous botryoid nodule in the right palmar region. Cytological analysis revealed asteroid bodies, Splendori-Hoeppli reaction, macrophages, multinucleated giant cells, and degranulated eosinophils, spores, septate hyphae, and mineralization, which are compatible with a dimorphic fungal granuloma, requiring complementary techniques to confirm the specific agent.*

**Keywords:** *Amphibians, fungi, inflammation, mineralization.*

### INTRODUÇÃO

A reação granulomatosa é um tipo de inflamação crônica que envolve predominantemente células do sistema fagocítico-monocitário arranjadas em agregados aleatórios, massas ou nódulos (WILLIAM e FATIMA, 2022). São relatadas algumas formações nodulares em anfíbios, frequentemente em anuros, associadas a micobactérias não-tuberculosas e/ou fungos pigmentados, com ocorrências desde esporádicas até surtos em criações comerciais no exterior (FISCHER *et al.*, 2009).

Distribuída no nordeste brasileiro, a espécie *L. vastus* representa um anuro de médio porte, com alta abundância (AMPHIBIAWEB, 2024) e frequentemente observada em áreas antropizadas. Pouco se sabe sobre a saúde física dessa espécie, exceto por estudos em andamento por este grupo (WILLERS *et al.*, 2023; ELEUTÉRIO *et al.*, 2023; BRAGA *et al.*, 2023). Além dos benefícios para a conservação da espécie e de seus congêneres e simpátricos, essas informações são importantes para diagnóstico de saúde ambiental e prevenção de zoonoses relacionadas. O objetivo deste trabalho foi relatar a ocorrência de granuloma fúngico focal em um indivíduo de *L. vastus* de uma reserva urbana no Ceará.

### ATENDIMENTO AO PACIENTE

No primeiro semestre de 2023, por ocasião dos trabalhos de monitoramento da fauna da ARIE Matinha do Pici (AMP), um espécime de *L. vastus*, fêmea, medindo 124,40mm de comprimento rostro-cloacal e pesando 281g, estado geral e escore corporal aparentemente normais, apresentou nódulo botrioide subcutâneo em região palmar direita medindo

aproximadamente 1,5cm de diâmetro. Foi realizado exame citológico, corado com Ziehl-Neelsen (ZN), e Romanowski, assim como o esfregaço sanguíneo. À punção por agulha fina, notou-se lesão firme com sensação arenosa durante os movimentos de leque da agulha.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame citopatológico, foram observados fundo granuloso, corpos asteroides e reação de Splendore-Hoeppli - materiais inertes cercados de material acidofílico radiado; macrófagos, células gigantes multinucleadas e eosinófilos degranulados; esporos medindo  $2,6 \pm 0,2\mu\text{m}$  de diâmetro, agregados radialmente, e hifas septadas medindo aproximadamente  $1,6\mu\text{m}$  de espessura, originadas de esporângio com  $27,4 \pm 10,5\mu\text{m}$  de diâmetro, e deposição de cristais de fosfato e hidroxifosfatos de cálcio.

O esfregaço sanguíneo do indivíduo mostrou contagem diferencial de leucócitos com predominância de linfócitos (37,5%), seguidos de eosinófilos (30,7%), neutrófilos (18,3%), monócitos (7,7%) e basófilos (5,8%). Não foram observados macrófagos contendo formas bacilares negativas nem coradas ao ZN, assim como várias outras amostras de nódulos subcutâneos ligadas ao mesmo estudo também foram negativas à coloração de ZN. Baseado nos achados, o diagnóstico apontou para um granuloma por fungo dimórfico.

A morfologia do clamidósporo, o tamanho e a agregação dos esporos, sugeriu *Paracoccidioides* sp., embora outros elementos observados eventualmente sugerissem *Blastomyces* sp. ou *Fonsecaea* sp. Para a identificação definitiva do agente etiológico, diagnósticos moleculares são mais precisos. As principais etiologias de granulomas fúngicos, denominados cromoblastomicoses, em anfíbios incluem fungos pigmentados, de gêneros como *Cladosporium*, *Philalophora*, *Fonsecaea* e *Mucor*, de ocorrência esporádica na Europa, Estados Unidos e Austrália, relatados desde a década de 1970 (RUSH *et al.*, 1974; JUOPPERI *et al.*, 2008; JPC, 2014; FISCHER *et al.*, 2009).

Na América do Sul, incluindo o Brasil, não foram encontrados casos semelhantes em anfíbios, publicados em periódicos ou eventos científicos, embora existam registros de áreas endêmicas de cromoblastomicoses em humanos no Brasil (SANTOS *et al.*, 2020), envolvendo cepas ambientais e hospedeiros imunodeprimidos, o que reforça a importância da abordagem em saúde única. A deposição de cristais de cálcio costuma acompanhar classicamente granulomas por corpo estranho (WILLIAM e FATIMA, 2022).

O fenômeno de Splendore-Hoeppli é característico de doenças infecciosas, mostrando-se como áreas eosinofílicas cercadas por agentes bacterianos ou fúngicos, e cristais de cálcio, que representam um grande complexo antígeno-anticorpo (HUSSEIN, 2008). A reação eosinofílica costuma acompanhar infecções fúngicas granulomatosas, incluindo *Paracoccidioides* sp. *Aspergillus* sp. e *Basidiobolus* sp. (HASSAN *et al.*, 2013; BORGES *et al.*, 2023).

A contagem diferencial de eosinófilos no esfregaço foi considerada de 1,6 a 30x superior aos valores de referência disponíveis em diferentes espécies (GIBBONS *et al.*, 2019). O habitat e o comportamento do indivíduo predispõem ao desenvolvimento de infecções por agentes ambientais ou saprófitas, ascendendo via continuidade em ferimentos por tentativas de predação (FELIX-NASCIMENTO *et al.*, 2024).

## CONCLUSÕES

O exame clínico e a avaliação citológica foram eficientes em diagnosticar um granuloma por fungo dimórfico em rã da espécie *L. vastus*, necessitando de técnicas complementares para confirmar o diagnóstico etiológico específico. O monitoramento clínico da espécie na reserva será importante para melhor caracterizar a ocorrência desta e de outras inflamações granulomatosas que estão sendo observadas em anuros da área.

## REFERÊNCIAS

AMPHIBIAWEB. *Leptodactylus vastus*. University of California, Berkeley, USA. Disponível em: [https://amphibiaweb.org/amphibian/amph\\_index.html](https://amphibiaweb.org/amphibian/amph_index.html). Acesso em: 28 mai. 2024.

BORGES, B.M.; RAMOS, R.B.C.; PREITE, N.W.; KAMINSKI, V.L.; ALVES DE CASTRO, P.; CAMACHO, M.; MAXIMO, M.F.; FILL, T.P.; CALICH, V.L.G.; TRAYNOR, A.M.; SARIKAYA-BAYRAM, Ö.; DOYLE, S.; BAYRAM, Ö.; DE CAMPOS, C.B.L.; ZELANIS, A.; GOLDMAN, G.H.; LOURES, F.V. Transcriptional profiling of a fungal granuloma reveals a low metabolic activity of *Paracoccidioides brasiliensis* yeasts and an actively regulated host immune response. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.13, n.1, p.1-27, 2023.

BRAGA, R.R.; ELEUTÉRIO, B.K.N.; LIMA, R.C.S.; QUIRINO, T.F. Marked systemic necrotizing disease in a *Leptodactylus vastus* (Anura:Leptodactylidae) from an urban reserve in northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.16, n.3, p.203–207, 2023.

ELEUTÉRIO, B.K.N.; LIMA, R.C.S.; QUIRINO, T.F.; BRAGA, R.R. **Parâmetros clínicos e fatores de influência em *Leptodactylus vastus*, Lutz, 1930 (Anura: Leptodactylidae) de uma reserva natural urbana em Fortaleza, Ceará.** In: Anais do X Congresso Brasileiro de Herpetologia, 2023, Porto Seguro. [...]. Porto Seguro: SBH, 2023, p.548.

FELIX-NASCIMENTO, G.; LUCENA, R.B.; FONSECA, C.F.; SILVA, I.J.S.; MORAES, C.C.N.; CARVALHO, C.A.C.; MOURA, G.J.B.; VIEIRA, F.M.; RIBEIRO, L.B.; OLIVEIRA, J.B. Mineral profile and histopathological findings in the liver of white-lipped frog (Leptodactylidae) from the morphoclimatic domain of the Caatingas, Brazil. **Environ Science Pollution Research**, v.31, n.1, p.10750–10765, 2024.

FISCHER, J.R.; BROWN, R.G.; MILLER, A.M. **Mycobacteriosis in Amphibians: Report of Two Cases in the Southeastern United States and a Review of the Literature.** Journal of Zoo and Wildlife Medicine, v.40, n.3, p.568-578, 2009.

GIBBONS, P.; WHITAKER, B.R.; CARPENTER, J.; MCDERMOTT, C.; KLAPHAKE, E.; SLADKY, K. Hematology and Biochemistry Tables. In: DIVERS, S.J.; STAHL, S. **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery.** Saint Louis: 3. ed., Elsevier, 2019. p.333–350.

HASSAN, H.A.; MAJID, R.A.; RASHID, N.G.; NURADEEN, B.E.; ABDULKARIM, Q.H.; HAWRAMY, T.A.; RASHID, R.M.; FARRIS, A.B.; GUARNER, J.; HUGHSON, M.D. Eosinophilic granulomatous gastrointestinal and hepatic abscesses attributable to basidiobolomycosis and fasciolias: a simultaneous emergence in Iraqi Kurdistan. **BMC Infectious Diseases**, v.13, n.1, p.91-99, 2013.

HUSSEIN, M.R. Mucocutaneous Splendore-Hoeppli phenomenon. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.35, n.11, p.979-988, 2008.

JPC. The Joint Pathology Center. Conference 09, 2014 Case: 04 20141105: Chromoblastomycosis, ditch frog. Disponível em: [https://www.askjpc.org/wsc/wsc\\_showcase2.php?id=VnVTejNDMHHM0RURYd3Bnb0hwWjFLdz09](https://www.askjpc.org/wsc/wsc_showcase2.php?id=VnVTejNDMHHM0RURYd3Bnb0hwWjFLdz09). Acesso em: 28 mai. 2024.

JUOPPERI, T.; KARLI, K.; DE VOE, R.; GRINDEM, C.B. Granulomatous Dermatitis in a Spadefoot Toad (*Scaphiopus holbrooki*). **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, n.3, p.137-139, 2008.

RUSH, H.G.; ANVER, M.R.; BENEKE, E.S. Systemic chromomycosis in *Rana pipiens*. **Laboratory Animal Science**, v.24, n.4, p.646-55, 1974.

SANTOS, D.W.C.L.; VICENTE, V.A.; WEISS, V.A.; DE HOOG, G.S.; GOMES, R.R.; BATISTA, E.M.M.; MARQUES, S.G.; QUEIROZ-TELLES, F.; COLOMBO, A.L.; AZEVEDO, C.M.P.S. Chromoblastomycosis in an Endemic Area of Brazil: A Clinical-Epidemiological Analysis and a Worldwide Haplotype Network. **Journal of Fungi**, v.6, n.4, p.204-211, 2020.

WILLERS, N.S.; LIMA, R.C.S.; CUNHA, W.P.C.; QUIRINO, T.F.; BRAGA, R.R. **Influência de hemoparasitoses em perfil diferencial leucocitário da rã pimentada (*Leptodactylus vastus*) Lutz, 1930 (Anura: Leptodactylidae) de reserva urbana no Ceará**. In: Anais do XII Encontro Nordestino de Grupos de Estudos de Animais Selvagens (ENGEAS), 2023, Areia. [...]. Areia: 2023.

WILLIAMS, O.; FATIMA, S. Granuloma. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554586/>. Acessado em: 28 mai. 2024.